Agilent J&W HP-5ms ウルトライナートキャピラリ GC カラムを用いた半揮発性有機物の分析

アプリケーション

環境

著者

Doris Smith and Kenneth Lynam
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808
USA

概要

USEPA メソッド 8270 などのメソッドを用いた半揮発性有化合物の微量分析は、環境汚染物質を評価する上で重要なツールです。半揮発性化合物の広汎な化学的多様性はクロマトグラム分析において大きな課題です。本アプリケーションノートでは、Agilent J&W HP-5ms ウルトライナートキャピラリ GC カラムと電子イオン化法による四重極型質量分析計を用いた半揮発性化合物の微量分析における利点を紹介します。

アジレントでは、GC カラムの不活性度性能を効果的に評価する新たな試験手順を導入しました。新たな試験手順は、カラムの不活性度と品質を徹底的に調べるために苛酷なプローブを意図的に採用するというものです。たとえば、1-プロピオン酸、4-ピコリン、リン酸トリメチルといった苛酷なプローブを使用して各カラムの不活性度性能を確認しています。

Agilent Technologies

はじめに

USEPA メソッド 8270 [1] は、GC/MS によって環境サンプルから半揮発性有機化合物を検出するために広く使用されているメソッドです。このメソッドは、アミン類、アルコール類、多環芳香族炭化水素類、フェノール類など、さまざまな種類の化合物を分析対象としたものです。また、多くの分析対象物が酸性や塩基性を示すため、良好なクロマトグラフ分析を行い、信頼できる結果を得るためには、カラムや機器の活性を最小限に抑えることが重要です。

GC カラムにおいて活性を抑えるということは、分析対象化合物のレスポンスを最大限に高める上で重要です。ニトロフェノール類は、半揮発性化合物の中でも最も活性の強い化合物です。とりわけ、2,4-ジニトロフェノールは、分析中に流路の活性点へ吸着してしまい、低いレスポンスしか示さないことで知られている化合物です。低い濃度では、サンプル流路との相互作用により、2,4-ジニトロフェノールのレスポンスファクタ (RF) が、USEPA 8270 で要求される 0.050 という最低平均 RF を下回ることもあります。ウルトライナートシリーズのカラムでは、不確実な結果をもたらす原因となるキャピラリ GC カラムの活性が効果的に解消されています。

USEPA メソッド 8270 の分析対象化合物から化合物の数を絞り込んで混合されたカスタム標準溶液を入手し、その標準溶液を使用してカラム性能を評価しました。この半揮発性化合物類「ショートミックス」には、推奨内部標準の他に、ニトロソジメチルアミン、アニリン、安息香酸、2,4-ジニトロフェノール、4-ニトロフェノール、2-メチル-4,6-ジニトロフェノール、ペンタクロロフェノール、4-アミノビフェニル、ベンジジン、3,3'-ジクロロベンジジン、ベンゾ[b]フルオランテン、ベンゾ[k]フルオランテンが含まれています。上記の分析対象物は、それぞれの化学的活性とクロマトグラフ分析において好ましくない挙動を示すという特性に基づいて選択したものです。ショートミックスは、特に半揮発性分析に関するシステム性能の迅速な評価に役立ちます。早く溶出するニトロソアミン類から溶出の遅い多環芳香族炭化水素類 (PAHs) にいたるまで分析しにくい主だった化合物がこの混合液で代表されることになるため、クロマトグラフ分析における性能の評価が素早く行えるようになります。

より複雑なサンプル分析に関する ウルトライナートシリーズのカラム性能を示すために、上記のショートミックスとは別に、幅の広い半揮発性物質が含まれた「ラージミックス」というカスタム標準溶液も評価しました。ラージミックスには、極めて沸点の低い化合物から高沸点の PAHsまで、さまざまな酸性基、塩基性基、中性基を持つものが含まれています。

実験手法

この一連の実験には、 Agilent 6890N GC/5975B MSD (7683B オートサンプラ装備) を使用しました。各分析で使用したクロマトグラフ条件を表 1 にまとめます。各実験で使用した流路の消耗品を表 2 にまとめます。

表 1.　EPA メソッド 8270 校正用標準溶液に関するクロマトグラフ条件

GC:	Agilent 6890N/5975B MSD
サンプラ:	Agilent 7683B、5.0 µL シリンジ (部品番号 5181-1273) 1.0 µL スプリットレス注入
キャリア:	ヘリウム 30 cm/s、定流量
注入口:	スプリットレス; 260 °C、パージ流量 50 mL/min、0.5 min ガスセーバ流量 80 mL/min、3 min
注入口ライナ:	ダブルテーパダイレクト接続ライナ、不活性処理済 (部品番号 G1544-80700)
カラム:	Agilent HP-5ms ウルトライナート 30 m × 0.25 mm × 0.25 µm (部品番号 19091S-433UI)
オーブン:	40 °C (min)～100 °C (15 °C/min)、10 °C/min～210 °C (1min)、5 °C/min～310 °C、8 minで保持。
検出:	MSD イオン源 300 °C、四重極 180 °C、トランスファーライン 290 °C、スキャン範囲 *m/z*：45～450

表 2.　流路の消耗品

バイアル:	スクリューバイアル、茶色、不活性処理済、ラベル付 (部品番号 5183-2072)
バイアルキャップ:	青色スクリューキャップ (部品番号 5182-0723)
バイアルインサート:	100 µL 不活性処理済ガラスインサート/樹脂足付 (部品番号 5181-8872)
シリンジ:	5 µL (部品番号 5181-1273)
セプタム:	アドバンスドグリーン (部品番号 5183-4759)
注入口ライナ:	ダブルテーパダイレクト接続ライナ、不活性処理済 (部品番号 G1544-80700)
フェラル:	0.4 mm (内径) ショート; ベスペル/グラファイト 85%/15% (部品番号 5181-3323)
20 倍ルーペ:	20 倍ルーペ (部品番号 430-1020)

サンプル前処理

12 成分混合のカスタム半揮発性標準溶液を Ultra Scientific 社 (ロードアイランド州キングストン) から購入し、これを使用して 7 レベルの校正用標準溶液を調製しました。受け取り時の半揮発性物質の原液は2,000 µg/mL の濃度表記でした。USEPA メソッド 8270で推奨される内部標準ミックスは、AccuStandard 社 (コネチカット州ニューヘブン) から購入したものです。受け取り時の内部標準/サロゲート溶液は4,000 µg/mL の濃度の表記でした。

内部標準が含まれる溶液は 7 種類用意し、成分の濃度がそれぞれ 80、40、20、10、5、2、および 1 µg/mL になるように調製しました。すべての溶液は、A 級メスピペットとメスフラスコを使用してジクロロメタンで調製しました。使用したジクロロメタンは、VWR International 社 (ペンシルベニア州ウエストチェスター) から購入した Burdick and Jackson 社製のスペクトルグレードのものです。ジクロロメタンは、ブランクサンプルやシリンジ洗浄用溶媒として使用しました。

EPA 8270 校正レベル 2 標準品セットは、AccuStandard 社から購入したもので、83 種類の半揮発性化合物と内部標準液が含まれているものです。ラージミックス標準溶液は、対象化合物濃度が5 µg/mL となるよう調製しました。

結果と考察

ウルトライナートカラムの不活性度をを示す基本性能のプロファイル

Agilent J&W ウルトライナートシリーズのキャピラリ GC カラムの不活性度を検証する基本的な方法は、低濃度低温下でアグレッシブな活性プローブを使って試験するというものです。これは、Agilent J&W ウルトライナートキャピラリ GC カラムシリーズの各カラムについて一貫した不活性度の基本性能プロファイルを確立する厳格な方法です。基本性能の不活性度プロファイルは、活性点に吸着しがちな化学的活性種の分析の成否、特に本アプリケーションノートで取り上げる半揮発性化合物類のような物質の微量レベルでの分析の成否を予測する指標となります。参考文献 2〜7 には、試験ミックスの詳細な解説と応用例が収められています。

半揮発性物質の分析 (USEPA 8270)

本アプリケーションノートでは、Agilent J&W ウルトライナート HP-5ms 30 m × 0.25 mm × 0.25 µm (部品番号 19091S-433UI) を使用し、濃度範囲 1〜80 µg/mL にわたって 7 レベルの半揮発性物質検量線用標準溶液を用いて評価しました。濃度 1 µg/mL のショートミックス校正用標準溶液を 1 µL 注入したときのクロマトグラムを図 1 に示します。この分析では SCAN (スキャン) モードのみを使用しました。

注入口とカラムの不活性度の評価には、ペンタクロロフェノールとベンジジンという 2 種類の化合物を使用しました。こうした化合物に過大なピークテーリングが見られた場合には、カラム活性があると判断できます。ショートミックス標準溶液の分析では、図 2 に示した通り、問題視される分析対象化合物についてシャープで対称的なピーク形状が得られました。5 ng のオンカラム 8270 ラージミックス標準溶液の分析では、各半揮発性物質について良好な分離が得られました。この結果を図 3 に示します。

USEPA メソッド 8270 による半揮発性化合物分析では、2,4-ジニトロフェノールなどのシステム性能検査化合物について 0.050 の最低平均 RF が要求されます。2,4-ジニトロフェノールは、最も扱いにくい化合物の 1 つとして知られている極めて活性の強

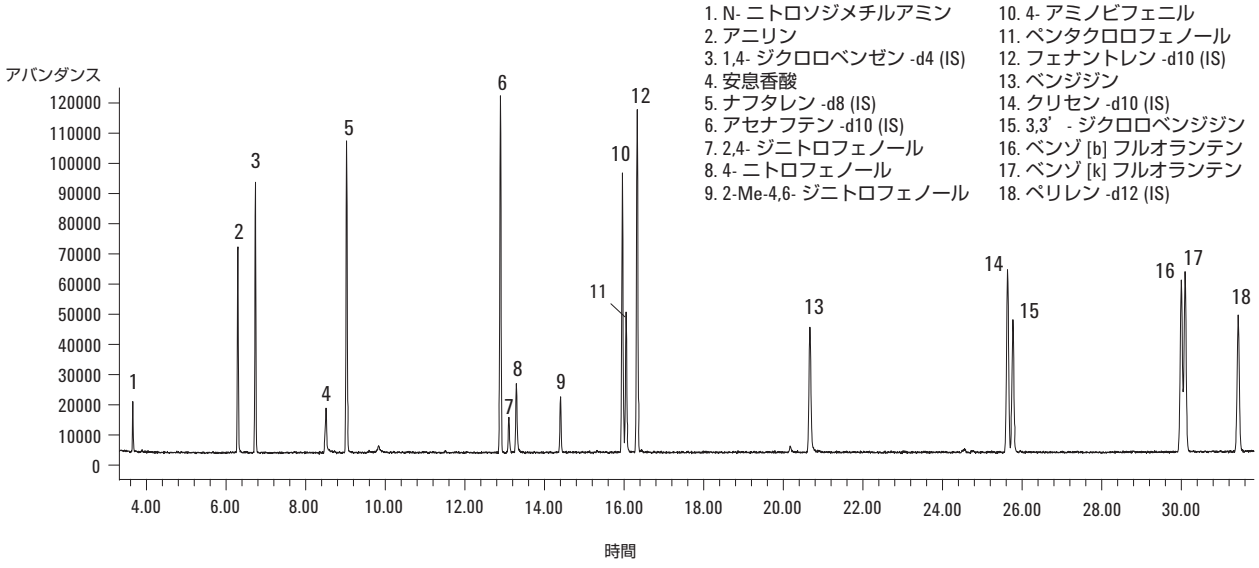

図 1. 注入試験溶液: EPA8270 ショートミックス標準溶液、カラム注入量: 1 ng、試験カラム: Agilent J&W HP-5ms ウルトライナート 30 m × 0.25 mm × 0.25 µm キャピラリ GC カラム (部品番号 19091S-433UI) のトータルイオンクロマトグラム (SCAN モード)。クロマトグラフ条件は表 1 に示しました。

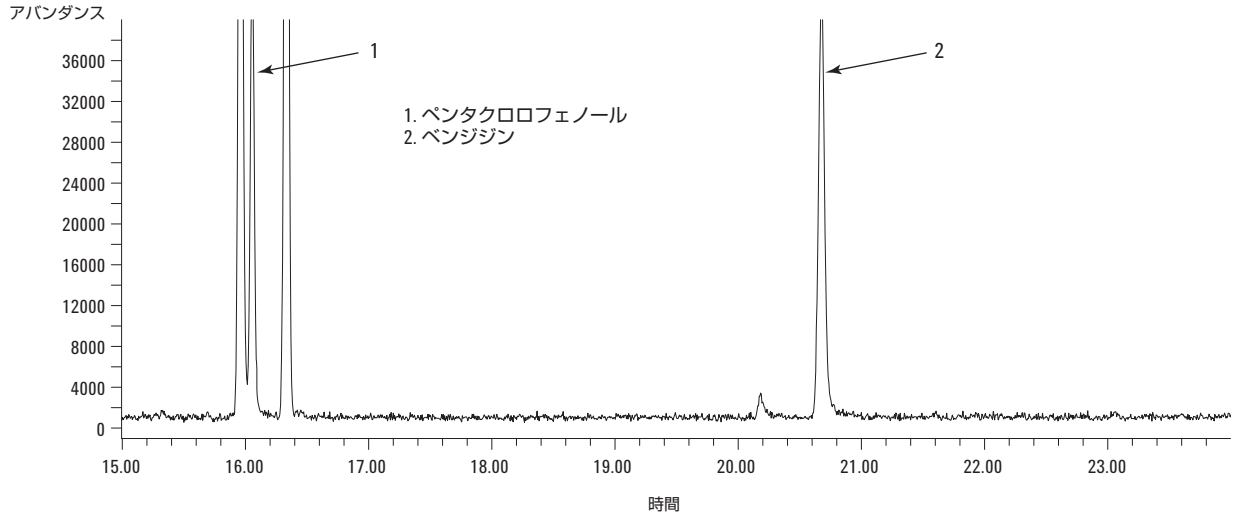

図 2. 濃度 1 µg/mL EPA 8270 ショートミックス標準溶液を 1.0 µL 注入したときのトータルイオンクロマトグラムの拡大図。これは、ピークテーリングを起こしている 2 つの半揮発性化合物のピーク部分を拡大した図です。クロマトグラフ条件は表 1 に示しました。

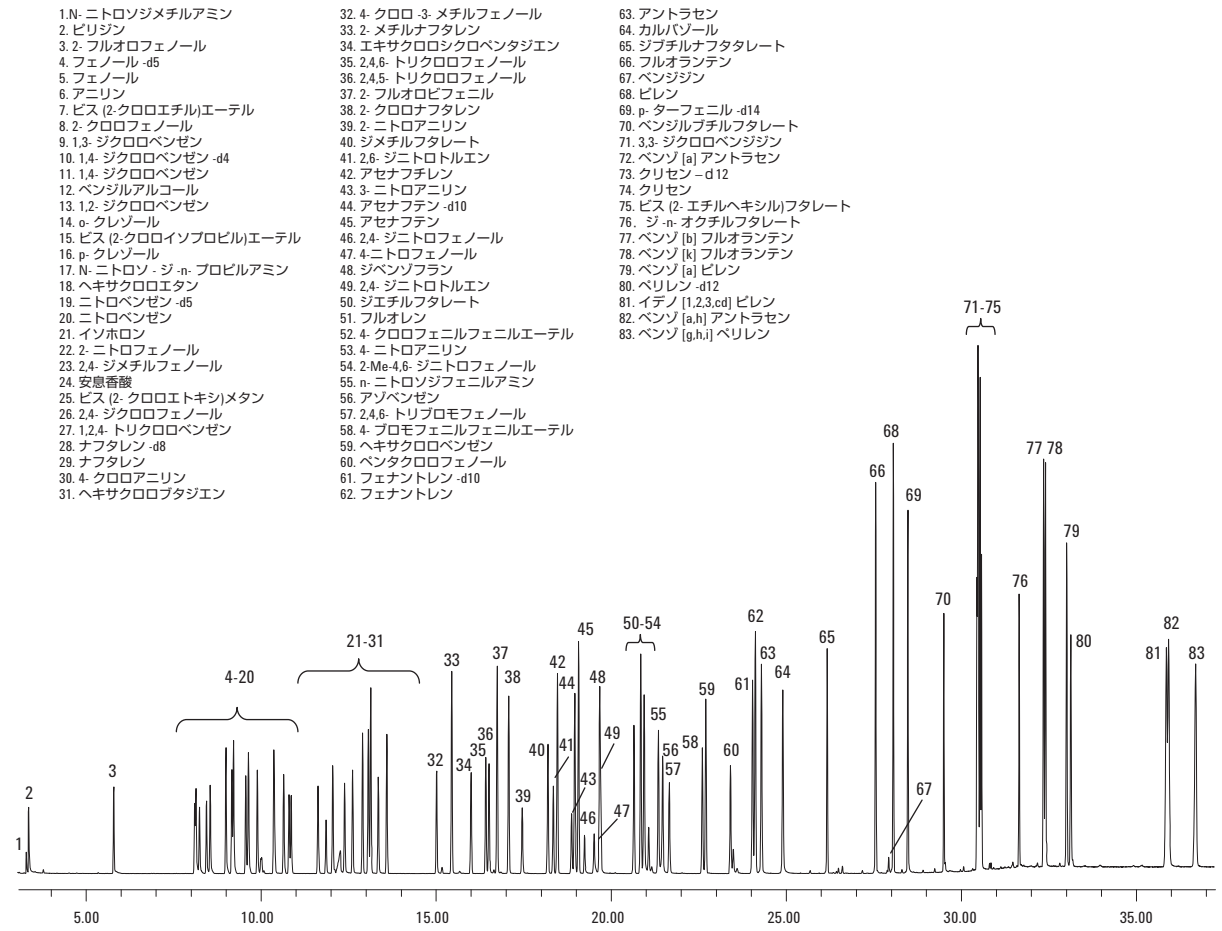

図 3. 注入試験溶液: EPA8270 校正用標準 (ラージミックス) 溶液、カラム注入量: 5 ng、試験カラム: Agilent J&W HP-5ms ウルトライナート 30 m × 0.25 mm × 0.25 µm キャピラリ GC カラム (部品番号 19091S-433UI) のトータルイオンクロマトグラム (SCAN モード)。クロマトグラフ条件は表 1 に示しました。

い分析対象化合物で、低濃度でレスポンスファクタが期待値に達しないことの多い物質です。

ショートミックス校正用標準溶液の分析では、2,4- ジニトロフェノールのレスポンスが 1-ng レベルで 0.1 を超えています。調査した濃度範囲での平均レスポンスは 0.15 になりました。1-ng の 2,4- ジニトロフェノールをカラムに注入したときの S/N 比に関するクロマトグラムを図 4 に示します。この難しい分析対象化合物の S/N 比が 16/1 を超えています。これは、HP-5ms ウルトライナートキャピラリ GC カラムの優れた性能を示すものです。

調査範囲全体にわたって優れた直線性が見られ、さらに扱いにくいフェノール類についても 0.990 またはそれ以上の R^2値が得られました。図 5 は、活性度の高い分析対象物に関する決定係数を示したものです。

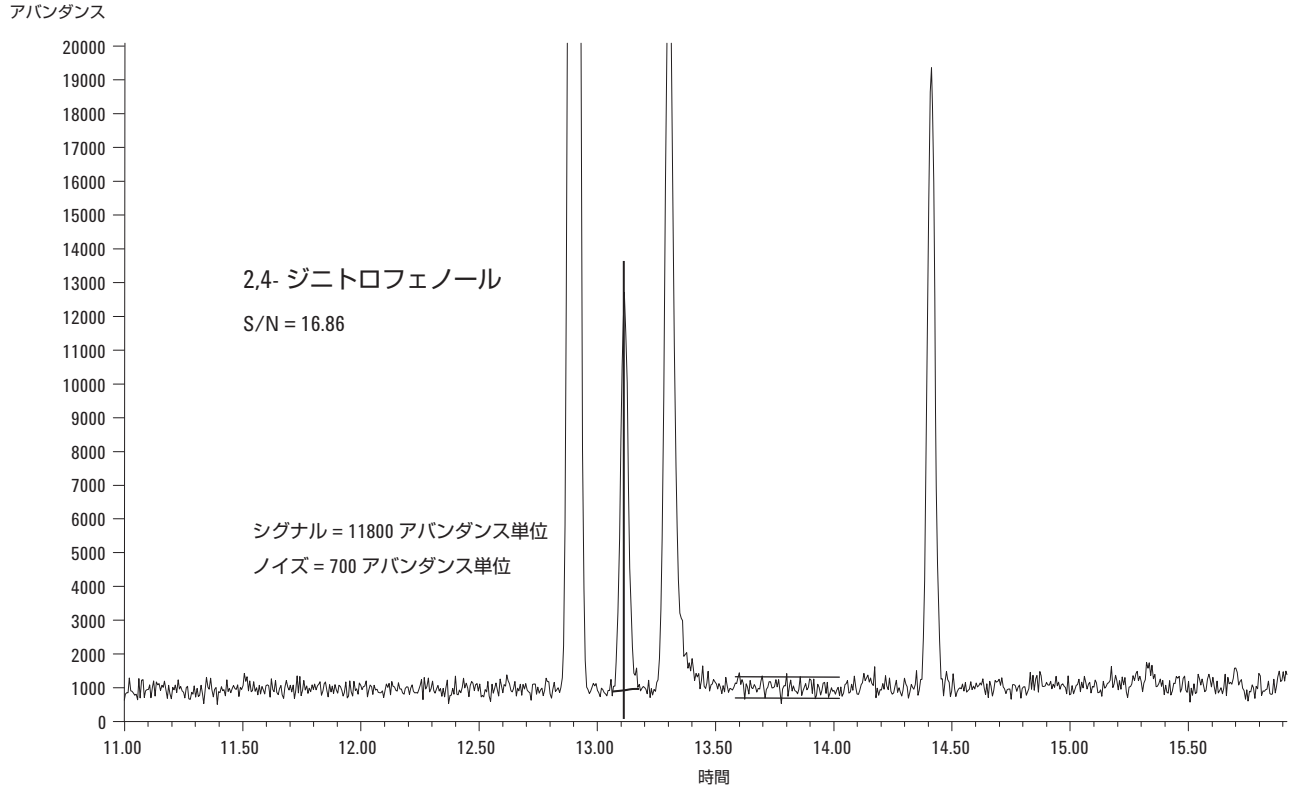

図 4 . 注入試験溶液: 濃度 1 µg/mL の EPA8270 (ショートミックス) 標準溶液、カラム注入量: 1 ng、試験カラム: Agilent J&W HP-5ms ウルトライナート 30 m × 0.25 mm × 0.25 µm キャピラリ GC カラム (部品番号 19091S-433UI) トータルイオンクロマトグラム (SCAN モード) の拡大図。図のピークは、さらに苛酷な半揮発性物質、2,4- ジニトロフェノールです。これを化合物あたりのカラム注入量に換算すると、1 ng になります。クロマトグラフ条件は表 1 に示しました。

	R^2
N- ニトロソジメチルアミン	0.995
2,4- ジニトロフェノール	0.990
4- ニトロフェノール	0.995
ペンタクロロフェノール	0.995
ベンジジン	0.995

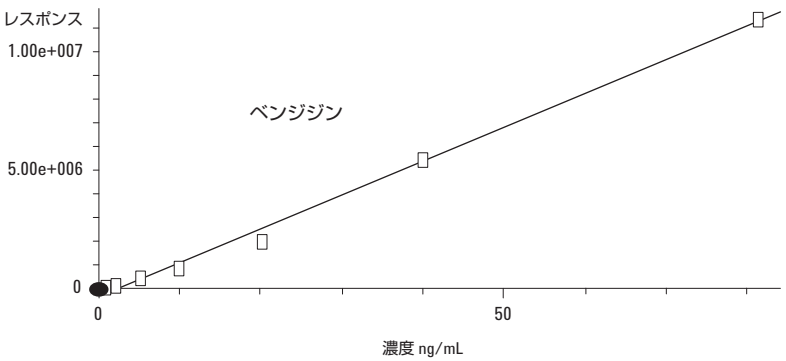

図 5. EPA メソッド 8270 ショートミックス標準溶液に含まれる化学的活性度の高い分析対象化合物に関する決定係数 (本検討の濃度範囲 1～80 µg/mL における値) とベンジジンの直線性を示すグラフ

結論

本アプリケーションノートでは、Agilent J&W HP-5ms ウルトライナートキャピラリ GC カラムが微量の半揮発性有機物の分析に優れた性能を備えていることを実証しました。調査したすべての半揮発性物質について優れた直線性が見られ、化合物あたりのカラム注入量が 1 ng というレベルに達する濃度においても 0.99 またはそれ以上の R^2 値が得られました。優れた直線性と高い R^2 値をもたらしている要因の 1 つは、極めて不活性なカラム表面にあります。ウルトライナートカラムに化学的活性点がないという事実は、ウルトライナートカラムが半揮発性物質分析にとって優れた選択であることを示しています。

本検討は、不活性な電子イオン化用イオン源を装備した Agilent 6890N/5975B GC/MSD システムの SCAN モードで実施しました。このシステムにおいて 1 ng の 2,4- ジニトロフェノールをカラムに注入したときの S/N 比は 16/1 を超えました。この結果は、半揮発性有機物の微量分析分野における Agilent J&W HP-5ms ウルトライナートカラムのパワーを明確に示しています。アジレントの最新の GC/MS 装置 (7890A/5975C GC/MSD トリプルアクシスディテクタ搭載) と Agilent J&W HP-5ms ウルトライナート GC キャピラリカラムを使用した場合には、定量限界をさらに引き下げられると推測できます。

参考文献

1. US EPA Method 8270D, Revision 4, February 2007, "Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS)"
2. Mitch Hastings, Allen K. Vickers, and Cameron George, "Inertness Comparison of Sample of 5% Phenyldimethylpolysiloxane Columns," Poster Presentation, 54th Annual Pittsburg Conference, Orlando, FL, March 2003
3. "Agilent J&W Ultra Inert GC Columns: A New Tool to Battle Challenging Active Analytes," Agilent Technologies publication 5989-8685EN, May 29, 2008
4. Mike Szelewski and Bill Wilson, "Improvements in the Agilent 6890/5973 GC/MSD System for Use with USEPA Method 8270," Agilent Technologies publication 5988-3072EN, November 7, 2001
5. Kenneth Lynam, 「不活性度性能テスト済みAgilent J&W DB-5msウルトライナートカラムを使用した半揮発性分析」、資料番号 5989-8616JAJP, May 13, 2008
6. Kenneth Lynam and Doris Smith, 「Agilent J&W DB-5msウルトライナートキャピラリGCカラムによる多環芳香族炭化水素(PAH)の分析」、資料番号 5989-9181JAJP, July 2008
7. Kenneth Lynam and Doris Smith, "Polybrominated Diphenyl Ether (PBDE) Analysis Using an Agilent J&W DB-5ms Ultra Inert Capillary GC Column," Agilent Technologies publication 5989-9571EN, August 2008

詳細情報

アジレント製品とサービスの詳細については、アジレントのウェブサイト
www.agilent.com/chem/jp
をご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本文書を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc., 2009

Published in Japan
January 20, 2009
5990-3416JAJP

Agilent Technologies